

寄附講座「和漢薬製剤開発分野」

富山大学和漢医薬学総合研究所 資源開発部門 和漢薬製剤開発分野

紺野 勝弘

2001 年（平成 13 年）、富山県配置薬業振興のため、産官学共同で新配置薬を開発することを目的として、「富山オリジナルブランド医薬品開発研究会」が『フォーラム富山「創薬」』の分科会として設立された。2004（平成 16）年には、富山大学和漢医薬学総合研究所に、寄附講座として和漢薬製剤開発研究部門が開設され、県くすり政策課、薬事研究所、県内製薬企業と共同で、富山オリジナルブランド医薬品の開発を開始した。以来 4 期 13 年続いた中で、2008（平成 20）年から 9 年間寄附講座に加わり教育・研究活動を行ってきた。

I. 富山オリジナルブランド医薬品「エッセン」の開発

1. 新胃腸薬処方の開発

第一期には、富山オリジナルブランド医薬品第一弾として、ニンジンを中心とした滋養強壮薬「パナワン」を開発し、2006 年販売開始した。第二期では、「パナワン」に続く新たな富山オリジナルブランド医薬品第 2 弾として、高齢化社会に対応した新しいタイプの胃腸薬の開発を目指した。一ヶ月に一度程度の頻度で研究会を開催し、その都度処方構成や試作など、種々検討を重ねた。その結果、現在医療用漢方薬として最も繁用される大建中湯（配合生薬：ニンジン 人参、サンショウ 山椒、ショウキョウ 生姜、コウイ 膠飴）をベースにし、サンザシ（山査子）とウバイ（烏梅）、さらにカンゾウ（甘草）を加えた新処方を考案した。いずれも、消化吸收を促す働きのある生薬で、消化機能の弱った高齢者の消化吸收を穏やかに助ける効果が期待される。また、下痢止めの「赤玉はら薬」や二日酔い・胃弱に効果のある「熊胆圓」など、既存の配置胃腸薬とは違った方向性なので、それらとの差別化を図ることもできる。処方配合決定後、分担して確認試験、安定性試験等を行い、2010 年（平成 22 年）承認申請、2011 年（平成 23 年）4 月新胃腸薬「エッセン」として販売開始した。

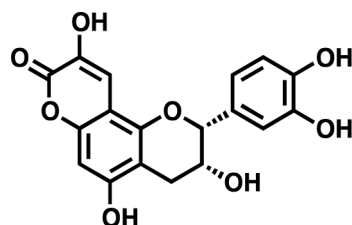


2. サンザシ確認試験法の改良

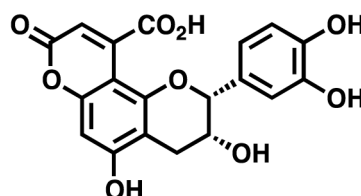
確認試験では、ショウキョウとサンザシを担当した。ショウキョウは、現行の日本薬局方規定の方法で問題なく行えたが、サンザシについては、薬局方規定のヒペロシドを TLC で検出する方法は適用できず、新たな方法を試みることにした。TLC 条件を種々検討したが、結局サンザシ単独では有効な方法を見出すことができず、ウバイとのダブルブランク法を用いた間接的方法で確認した。

3. 新規フラバノクマリン誘導体の単離・構造決定

サンザシ確認試験法の改良の一環として、サンザシエキスの詳細な成分解析を行なったところ、新規フラバノクマリン誘導体 2 種 crataegusin A, B を単離した。500 g のメタノールエキスから、溶媒分配、各種クロマトグラフィーを繰り返し、それぞれ 3.7 mg, 10.6 mg の収量で得られた。構造は、NMR (^1H , ^{13}C , 2D COSY, HMBC, HMQC), および質量分析を用いて解析し、絶対配置は、ECD シミュレーション解析法によって決定した。生物活性試験では、弱いながらも抗酸化作用 (DPPH assay) を示した。また、LC-MS を用いて、組織分布を調べたところ、果皮には A, B 両者が含まれるが、果肉と葉には、B のしか検出されなかった。このことから、これら新規フラバノクマリン誘導体は、植物体内で生合成されていることが示唆された。既知のフラバノクマリン誘導体とはごくわずかな構造的違いではあるが、本研究によって始めて単離・構造決定されたものであり、したがって、これらはサンザシ特異的成分と考えられるので、サンザシ確認試験の指標成分となり得る¹⁾。



crataegusin A



crataegusin B

4. 動物実験による薬効評価

動物実験による薬効評価を、富山大和漢研消化管生理学部門の協力により行った。薬効評価には、服用が期待される消化機能の弱った高齢者を考え、腸管での興奮性神経伝達物質であるアセチルコリンの遊離を抑制する $\alpha 2$ アドレナリン受容体のアゴニスト クロニジンをを用いた腸管運動機能不全モデルを構築して用いた。その結果、大建中湯は本病態モデルでは効果を発揮しなかったが、本薬剤は用量依存的に有意な薬理作用を示した。また、ウバイも単独では効果を発揮しなかったが、大建中湯との併用により弱いながらも効果を示した。従って、本薬剤はベースとなる大建中湯にウバイ等を加えることにより、薬理作用を発揮したものと考えられる。

II. 動物生薬の研究

「富山のくすり」としてよく知られている熊胆圓と六神丸は、それぞれ「熊胆」（ユウタン、クマの胆嚢）と「蟾酥」（センソ、ヒキガエルの毒腺抽出物）が主要な薬効生薬である。これら動物生薬は、日本薬局方にも収載され、薬効成分として、それぞれウルソデオキシコール酸、ブファジェノリドが規定されている。しかし、日本薬局方収載のこれら以外の動物生薬としては、牡蠣（ボレイ、カキの殻）と牛黄（ゴオウ、ウシ胆嚢中の結石）の2品目だけであり、合わせてもわずか4品目、生薬類244品目中の2%にすぎない。これは、動物生薬の薬効成分および品質規格が、植物性生薬ほどは進んでいないことを物語っている。そこで、まだ規格の定まっていない動物生薬について、それぞれの生薬に特有な成分、特に薬効成分を特定し、それを基に品質規格を設定することを目指して、成分研究を行った。

1. 地竜のペプチド成分

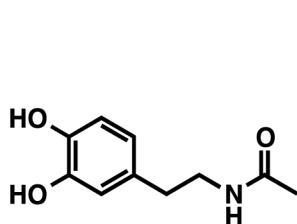
ミミズを基源とする動物生薬・地竜（ジリュウ）は、もともと『神農本草経』に収載され、民間薬としてのミミズも、特に子供の風邪の熱冷ましとして、昔からよく使われてきた。地竜の薬効としては、解熱作用が最も定評があり、各種解熱鎮痛薬や感冒薬にも配合されている。しかし、その薬効成分は未だ不明で、品質規格も定まっていない。地竜の解熱作用成分は、もともと含まれているものではなく、熱水抽出の過程である種のタンパク質から生成してくる低分子水溶性物質との報告がある（緒方章，森文苗：薬学雑誌，1938，58，859-870）。このことは、解熱作用成分は、低分子量ペプチドである可能性を示唆する。そこで、地竜の熱水抽出物について、LC-MSを用いてペプチド成分の網羅的解析を行い、58種のペプチド配列を決定した。そのうちの約6割にあたる33種はアミノ酸残基数2-4で、低分子量ペプチドが多いことがわかった。また、27種は、すでに報告のあるアカミミズのアクチン配列の一部と完全に一致した。したがって、これらはアクチンから分解・生成したものと考えられる。これらアクチン分解物の中には、降圧作用を有するジペプチド（VW, FY）およびトリペプチド（LVV）が含まれていることがわかった。これらのペプチドは、食品タンパク質の酵素分解産物としても得られ、アンジオテンシン変換酵素（ACE）阻害作用を示すことが報告されている。地竜の降圧作用の少なくとも一部は、これら3種のペプチドによるものと考えられる²⁾。

2. 蟬退の網羅的成分分析

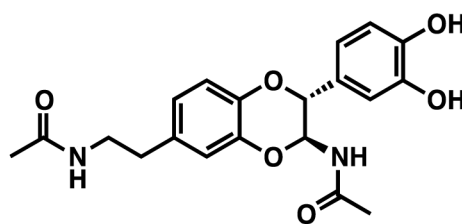
蟬退（センタイ）は、クマゼミなどのセミの抜け殻を利用した動物生薬である。蕁麻疹などの皮膚掻痒症に対する止痒効果、咽喉炎や結膜炎などに対する抗炎症作用などがあるとされているが、薬効成分は不明である。一般的に昆虫の外骨格を形成するのはキチンやキトサンなどの多糖類であり、これらの基本的に溶媒に不溶性の生体高分子については、血清コレステロール降下作用や免疫応答などの薬理作用が知られている。一方、昆虫外骨格クチクラの硬化に関与する物質群として、高度に酸化された*N*-acetyldopamine の種々の類縁体と、それらの重合体が知られている。これまでの研究から、蟬退から

は、2 種の *N*-acetyldopamine の二量体などが単離されているが、それらの薬理活性への寄与は不明である (Noda, N., *et al.*, Chem. Pharm. Bull. 2000, 48, 1749-1752)。そこで、蟬退の溶媒可溶性成分の構成についてそれらの全体像を明らかにするため、LC-MS による網羅的解析を行った³⁾。

メタノール抽出液および煎じ液の LC-MS プロファイルは、どちらにも共通して質量数 200 前後の 2-Oxo-*N*-acetyldopamine や *N*-acetyldopaquinone などの *N*-acetyldopamine 類縁体と考えられる成分が検出され、同時に *N*-acetyldopamine の 2 量体を 3 成分検出した。また、メタノール抽出液で特に顕著に検出された 1 成分は、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで単離し、NMR などの分光学的方法により *paconol* と同定した。



N-acetyldopamine



N-acetyldopamine dimer

III. 厚生労働科学研究「食品の安心・安全確保推進研究事業」

1. 情報提供

2008年（平成20年）より、厚生労働科学研究「食品の安心・安全確保推進研究事業」に参加し、自然毒の中の植物毒を担当してきた。2010年（平成22年）には、「自然毒のリスクプロファイル」として、過去数年間に中毒事例のある22種の有毒植物について、植物の特徴、間違いやすい植物、毒成分の化学と薬理などを概説し、厚労省のホームページに公開した⁴⁾。その後、随時情報を更新している。さらにこれを発展させて、180種余りの有毒植物をまとめ、「日本の有毒植物」として出版した⁵⁾。また、食中毒事故の現地調査を行い、新聞報道等では得られない情報を探るとともに、原因植物を入手して毒成分分析を行い、今後の事故防止対策の一環としている⁶⁾。

2. DNA鑑別による有毒植物の迅速・簡便な種同定法

2012年（平成24年）～2014年（平成26年度）、DNA鑑別による迅速・簡便な植物種の同定法を開発した。食中毒が起きた場合には、原因になった植物を特定することが早期の適切な治療方針の決定に役立ち、のちの情報の蓄積に貢献することになる。食中毒原因植物の鑑別（推定）は形態学的な分析、LC-MS等を用いた有毒成分の検出および中毒症状からの推定が行われている。しかし、形態学的鑑別には熟練を要すること、有毒成分の化学分析は標準化合物の入手可能性や高額な分析機器を要すること等の課題がある。また、中毒症状や原因食品の残品から原因を推定することが困難なこともある。そこで、DNA

バーコードを用いた有毒植物の迅速・簡便な種同定法を開発した⁷⁾。本法は、高価な機器を必要とせず、操作が簡便であるため高度な実験手技を必要としないこと、また分析時間が短く（90分以内）、結果（電気泳動像）の解釈が容易であることなどの特徴があり、実際の食中毒原因植物にも適用できることを確認した。本法は、保健所や医療機関などの現場において、食中毒患者への初期対応と平行して行え、原因植物の迅速な同定に活用できるものと考えている。

IV. ミャンマー生薬局方作成および配置薬普及支援

「富山のくすり」は、配置薬あるいは置き薬の代名詞ともなっている。「先用後利」の理念のもと、江戸時代から300年の歴史と伝統を持ち、今なお全国に展開している家庭常備薬の定番とも言ってよい。最近10年の間、配置薬のシステムがプライマリーヘルスケアのモデルとしてアジア諸国にも取り入れられ、モンゴルやタイなど各国で配置薬システムが運用されはじめている。ミャンマーの配置薬は、日本財団の経済的支援のもと、保健省伝統医療局を運営主体とする国家プロジェクトとして、2009年に開始された。ミャンマー伝統薬で構成される配置箱を、村（コミュニティ）単位で一個設置して、村民全員で共同利用する。配置薬システムと同時に、ミャンマー生薬局方の作成も開始された。ミャンマーでは、医薬品の品質確保・管理の指針が確立していないため、偽薬や粗悪な品質の医薬品が、少なからず出回っている現状がある。特に、2000年の歴史を持つミャンマー伝統薬は、現在でも日常的によく使われているが、用法、用量などは、過去の使用経験からくる情報のみが頼りで、近代的・科学的品質管理はまったくなされていなかった。このような状況において、伝統薬の品質管理技術を確立し、それを用いて生薬局方を作成し、配置薬等に活用していくことは、プライマリーヘルスケアのみならず、保健衛生全般の状況改善に対して、大きく貢献できる。

1. ミャンマー生薬局方の作成支援

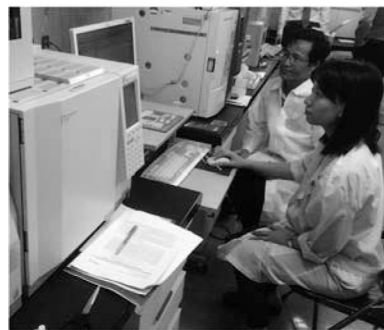
第二期の寄附講座を主宰していた佐竹元吉教授は、当時、日本財団を通じてミャンマー生薬局作成委員会の顧問を務めていたことから、当研究室に伝統医療局技術職員の研修実施依頼があった。配置薬事業開始時において、伝統医薬品の品質管理、生薬局方収載のデータ取得のための検査要員の数および検査能力が不足していたためであった。そこで、二名の研修生を受け入れ、3ヶ月間（2011年12月-2012年2月）の技術研修を行った。課題は、植物の形態分析と化学分析で、その成果は、2013年発行のミャンマー生薬局方第一巻に反映された。

2. JICA草の根技術協力事業「ミャンマーにおける伝統医薬品の品質管理を通じたプライマリーヘルスケア向上事業」

上記生薬局方作成支援の発展、継続を目指し、JICA草の根技術協力事業として「ミャンマーにおける伝統医薬品の品質管理を通じたプライマリーヘルスケア向上事業」を提案・申請したところ採択され、

2014年7月から事業を開始した。本事業では、富山大学を中心に、富山県くすり政策課と県薬業連合会の三者共同で、すなわち産官学連携によって、ミャンマー生薬局方作成および配置薬普及支援を進める。

専門技術研修として、毎年（2015年4～6月、2016年5～7月）それぞれ伝統医療局研究員2名を研修生として受け入れ、化学分析、微生物試験について研修した。当研究室では、生薬のTLC、HPLC、およびLC-MSによる成分分離・精製等の技術を習得した。県薬事研では、GC-MSによる生薬の精油成分分析、原子吸光法による重金属試験、溶出試験の技術を学んだ。クラシエ製薬では、GCを用いた残留農薬試験を行った。ここで学んだ分析技術は、生薬局方第二巻の作成に生かされ、研修生4名はモノグラフのデータ取得において中心的役割を担った。なお、ミャンマー生薬局方第二巻は最近完成し、近日刊行予定となっている。



2015年6月、2016年7月に、伝統医療局局長はじめ8名の配置薬事業関係者、およびFDAより1名(2016年のみ)を研修団として富山に招き、産官学の県内医療関係施設（富山大、県薬事研、薬用植物栽培指導センター、クラシエ製薬、廣貫堂、富士薬品）の見学、配置薬の実地研修を行った。また、「富山・ミャンマー伝統医薬品・プライマリーヘルスケアシンポジウム」を開催し、80～90名の県内薬業関係者が出席した。ミャンマー側から2名、日本側から3名が、それぞれの配置薬、プライマリーヘルスケアについて講演し、お互いの現況を理解することができ、関係者間の交流も深まった。

毎年一回（2014年10月、2015年12月、2016年12月）富山産官学で構成する専門家訪問団6～7名を派遣。7～10日間で各地を訪問、関連施設を見学して、現地の医療体制・現況を視察した。伝統医療

局（ネピドー）および伝統医療大学（マンダレー）では、教職員、研究員と交流し、実験室、薬草園等を見学して現状を把握し、技術支援の参考とした。配置薬コミュニティ（ネピドー、マンダレー近郊）を訪問し、配置薬がどのように活用されているかなど、聞き取り調査をした。コミュニティ全体（～1000戸）で一つの配置箱を利用し、比較的良く機能していることがわかった。配置箱の薬を製造・提供する国立製薬工場（マンダレー）では、現在稼働している設備が老朽化しているので、新しく GMP 準拠の施設を建設中。その支援が、今後の重要課題となる。民間製薬企業 FAME（ヤンゴン）は、ミャンマー国内ではほぼ唯一の GMP 準拠製薬工場を持つので、その見学は、富山県内製薬企業進出のため参考となった。

本事業は 2016 年度が 3 年計画の最終年度になるが、今後も継続して支援することを目的として、新たに「ミャンマーにおける伝統医薬品の製造管理及び品質管理の改善を通じた保健衛生向上事業」として申請したところ採択され、2017 年度から 3 年間、第 2 期として継続することとなった。

謝辞

終始ご指導くださった佐竹元吉教授（現昭和薬科大学）に、心より感謝します。研究実験、学生・研修生の指導を担当した数馬恒平助教に、感謝します。本寄付講座に在籍した学生、研究生、研修生の努力に感謝します。室井真奈技能補佐員（JICA 国内調整員）は、JICA 草の根事業を支えてくれました。和漢医薬学総合研究所の教職員の方々から、多大なご協力、ご支援をいただいたことに御礼申し上げます。本寄付講座の教育・研究活動は、富山県、富山県薬業連合会、クラシエ製薬、廣貫堂、シオノギ製薬の経済的支援によって行われました。

文献

- 1) Kazuma K., Isobe Y., Asahina H., Nehira T., Satake M., Konno K.: Crataegusin A and B, new flavanocoumarins from the dried fruits of *Crataegus pinnatifida* var. *major* (Rosacea). Nat. Prod. Commun., 11: 965-969, 2016.
- 2) 紺野勝弘, 数馬恒平, 佐竹元吉: 地竜エキス中の ACE 阻害作用ペプチド: 日本生薬学会第 63 回年会, 2016, 9/25, 富山.
- 3) 数馬恒平, 松本弘樹, 紺野勝弘, 佐竹元吉: 生薬センタイの成分: 日本薬学会第 134 年会, 2014, 3, 熊本.
- 4) 塩見一雄, 長島裕二, 荒川 修, 近藤一成, 佐竹元吉: 自然毒のリスクプロファイル. http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/syokuchu/poison/index.html
- 5) 佐竹元吉 (監修): 日本の有毒植物. 学研教育出版, 東京, 2012.
- 6) 数馬恒平, 佐竹元吉, 紺野勝弘: 重症トリカブト中毒事例とその食品衛生学的背景. 食衛誌, 2013; 54: 419-425.
- 7) 篠崎淳一, 数馬恒平, 佐竹元吉, 近藤一成, 紺野勝弘: 食中毒事例の多い有毒植物の迅速・簡便な鑑別法の開発. 食衛誌, 投稿準備中.